

平成 26 年 5 月 16 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24790919

研究課題名(和文) 肥満・インスリン抵抗性における肝糖代謝異常に果たす肝細胞増殖制御機構の役割

研究課題名(英文) Role of hepatic proliferation on disorder of hepatic glucose metabolism

研究代表者

木村 久美 (Kimura, Kumi)

金沢大学・脳・肝インターフェースメディスン研究センター・特任助教

研究者番号：60409472

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：肥満・インスリン抵抗性モデルマウスは、肝糖産生の増加と肝肥大を伴う脂肪肝を呈する。本研究では、肝細胞増殖制御が、肥満・インスリン抵抗性状態における肝糖代謝異常に果たす役割を解明するため、肝臓特異的Cyclin D1欠損マウスを作出した。肝臓特異的Cyclin D1欠損マウスは、高脂肪食負荷による肥満・インスリン抵抗性誘導状態、あるいはレプチン受容体欠損肝臓特異的Cyclin D1欠損マウスの随時摂食時において、体重、血糖値で有意な差を生じなかった。今後は、糖脂質代謝パラメーター解析・高インスリン正常血糖クランプなどの表現型解析を行う。

研究成果の概要(英文)：Obesity-Insulin resistance is known to increase of hepatic gluconeogenesis and hepatic steatosis associated with enlarged liver. To understand the role of control of hepatic proliferation on disorder of hepatic glucose metabolism, we generated the liver specific Cyclin D1 knockout (KO) mouse. In this KO mouse treated with high fat diet or db/db-background, there was no significant difference in body weight and blood glucose level under ad lib fed conditions. To explain more fully, we will performed by perinsulinemic-euglycemic clamps in these mice.

研究分野：代謝学

科研費の分科・細目：エネルギー・糖質代謝異常

キーワード：肝糖代謝 肥満・インスリン抵抗性 肝細胞増殖

1. 研究開始当初の背景

肥満・インスリン抵抗性状態では、肝糖産生が増加することが知られている。一方で、非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) に代表される脂肪肝を合併し、肝肥大を伴うことも多い。代表者は、モデルマウスを用いた検討から、このような肝臓の肥大が、肝細胞の肥大だけではなく、肝細胞数の増加の両者に起因することを見出している (未発表データ)。肥満・インスリン抵抗性状態では、肝臓において炎症反応が誘導されることが明らかにされている。肝障害・肝切除時に発揮される肝臓の強力な自己増殖には炎症性サイトカインが重要な役割を持つことから、肥満に起因する慢性炎症が、脂肪肝に伴う肝細胞数の増加を引き起こしている可能性が考えられる。これまで、肝細胞の自己増殖制御、または肝糖代謝制御の解明が進む一方で、その両者の関連については十分な解明がなされていない。そこで、本研究では、肝細胞増殖制御が、肥満・インスリン抵抗性状態における肝糖代謝異常に果たす役割を解明することを目的とする。

代表者は、糖尿病の病因病態の解明を目標として、肝糖代謝調節異常について研究を行ってきた。特に、肝臓における PI3-K 経路や JAK2/STAT3 経路の肝糖新生制御における重要性についての研究を行っている。最近では、肥満・インスリン抵抗性状態において、肝小胞体ストレスが、PI3-K 経路のみならず、JAK2/STAT3 経路も阻害することを見出し、そのメカニズムを解明した (Kimura K, et al. Diabetes 2012)。肝臓での PI3-K と STAT3 シグナルの両者が、肝細胞増殖制御に重要な役割を果たしていることから、肥満・インスリン抵抗性状態における肝糖代謝制御異常に果たす細胞増殖制御機構の役割に着目した。その過程において、マウス個体の総肝細胞数測定法を確立し、レプチン受容体欠損 db/db マウスにおいて、肝細胞数が約 1.2 倍に増加

することを見出している (未発表データ)。さらに、肝細胞増殖制御のキー分子である Cyclin D1 の発現が、肝細胞は増殖しないにもかかわらず、食事摂取後に増加することも明らかにしている (未発表データ)。

肝臓部分切除後の肝臓増殖過程において、肝糖新生系酵素である PEPCK の遺伝子発現が著増することが明らかにされている (Biochem. J. 1992)。また、切除後の肝増殖障害をおこす、肝臓特異的 PI3-K 欠損マウス・STAT3 欠損マウス・C/EBP 欠損マウスでは、前者は肝糖産生の増加を、後者は肝糖産生の減少を来す。さらに、肝細胞増殖のキー分子である Cyclin D1 は、肝糖代謝に関わり深い PPAR や C/EBP の転写活性制御に重要な役割を果たすことが解明されている (Mol Cell Biol. 23:6159. 2003、Cell. 114:323. 2003)。このことは、Cyclin D1 をはじめとした細胞増殖制御機構が肝糖代謝制御に関与する可能性を示唆している。

2. 研究の目的

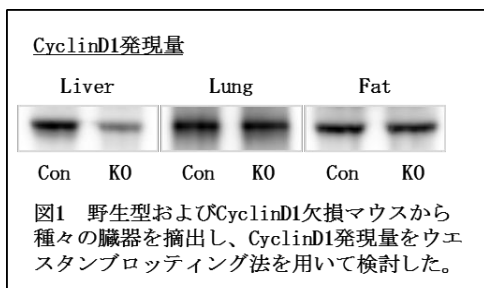
肥満・インスリン抵抗性モデルマウスは、肝糖産生の増加と肥大を伴う脂肪肝を呈する。代表者は、このような脂肪肝において、肝細胞数が増加していることを見出している (未発表データ)。肝糖産生を調節する肝臓 PI3-K 経路や JAK/STAT3 経路は、肝細胞増殖の制御にも重要な役割を果たすことが明らかにされている。一方で、肥満・インスリン抵抗性状態における肝糖代謝異常に、肝細胞の増殖という生理現象が果たす役割は十分に明らかにされていない。本研究では、肝細胞増殖の主要調節因子である Cyclin D1 に関して、肝臓特異的欠損マウスモデルを用いて、肥満・インスリン抵抗性状態における肝糖代謝異常に果たす肝細胞増殖制御機構の役割を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

Cyclin D1 を中心とした肝細胞増殖制御メカニズムの肝糖代謝における役割の解明を目的とする。具体的には、肝細胞増殖障害モデルである肝臓特異的 Cyclin D1 欠損マウスを用いて、生理的糖代謝、肥満・インスリン抵抗性に果たす肝細胞増殖の役割を検討する。まず、新規に樹立した Cyclin D1 flox マウスを用いて、肝臓特異的 Cyclin D1 欠損マウスの作出を行う。次に、肝臓特異的 Cyclin D1 欠損マウスへの高脂肪食負荷による肥満・インスリン抵抗性誘導を行ったり、あるいはレプチン受容体欠損 db/db マウスとの交配による肝臓特異的 Cyclin D1 欠損 db/db マウスの作製を行う。野生型、Cyclin D1 欠損型それぞれについて、表現型について解析する。

4. 研究成果

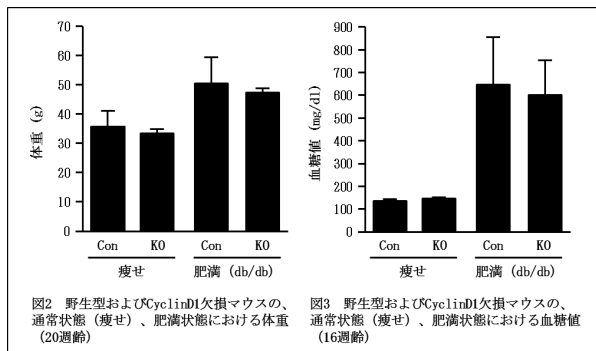
Cyclin D1 欠損マウスは歯牙異常や小型躯体など糖代謝解析には用いることができない。そこで、代表者は、新規に樹立した Cyclin D1 flox マウスを用いて、肝臓特異的 Cyclin D1 欠損マウスを作成した(図1)。



肝臓特異的 Cyclin D1 欠損マウスは、一見全く表現型がなく、躯体・体重・血糖値は対照と区別がつかない(図2)。また、レプチン受容体欠損肝臓特異的 Cyclin D1 欠損マウスにおいて、対照マウスと比して、4週、8週、12週、16週、20週の段階で、体重、血糖値で有意な差を生じなかった(図3)。

今後は、マウスモデルの糖脂質代謝パラメーター解析・高インスリン正常血糖クランプなどの表現型解析を行う。さらに、Cyclin D1 をはじめとした肝細胞増殖制御機構が、遺伝子転写制御と密接に関与するか考察し、

Cyclin D1 および肝細胞増殖制御機構と関連する糖代謝関連遺伝子転写制御因子の解明を行う。



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 3 件)

1) Kumi KIMURA, Nakamura Y, Inaba Y, Matsumoto M, Kido Y, Asahara S, Matsuda T, Watanabe H, Maeda A, Inagaki F, Mukai C, Takeda K, Akira S, Ota T, Nakabayashi H, Kaneko S, Kasuga M, Inoue H. Histidine augments the suppression of hepatic glucose production by central insulin action. Diabetes 査読有. 62, 2266-2267. 2013.

2) Kimura I, Ozawa K, Inoue D, Imamura T, Kumi KIMURA, Maeda T, Terasawa K, Kashiwara D, Hirano K, Tani T, Takahashi T, Miyauchi S, Shioi G, Inoue H, Tsujimoto G. The gut microbiota suppresses insulin-mediated fat accumulation via the short-chain fatty acid receptor GPR43. Nature Communications 査読有. 4, 1829. doi: 10.1038/ncomms2852. 2013

3) Kumi KIMURA, Tomoko YAMADA, Michihiro MATSUMOTO, Yoshiaki KIDO, Tetsuya HOSOOKA, Shun-ichiro ASAHARA, Tomokazu MATSUDA, Tsuguhito OTA, Hiroshi WATANABE, Yoshimichi SAI, Kenichi MIYAMOTO, Shuichi

KANEKO, Masato KASUGA, Hiroshi INOUE.
Endoplasmic Reticulum Stress Inhibits
STAT3-dependent Suppression of Hepatic
Gluconeogenesis via Dephosphorylation and
Deacetylation. Diabetes 査読有. 61,
61-73. 2012.

〔学会発表〕(計 9 件)

- 1) 木村久美、松本道宏、春日雅人、井上啓 「ヒスチジンは、中枢神経を介してインスリン作用による肝糖産生抑制を増強する」 第34回 日本肥満学会 2013年10月11日 東京国際フォーラム(東京)
- 2) 木村久美、松本道宏、春日雅人、井上啓 「ヒスチジンは中枢神経を介してインスリン作用による肝糖新生を抑制する」 第31回 内分泌代謝学サマーマナー 2013年7月12日 ゆふいん山水館(大分)
- 3) 木村久美、井上啓、「ヒスチジンは、中枢神経を介してインスリン作用による肝糖産生抑制を増強する」 第67回 日本栄養・食糧学会 2013年5月25日 名古屋大学(名古屋)
- 4) 木村久美、松本道宏、春日雅人、井上啓 「ヒスチジンは、中枢神経を介してインスリン作用による肝糖産生抑制を増強する」 第56回 日本糖尿病学会年次学術集会 2013年5月18日 ホテル日航熊本(熊本)
- 5) 木村久美、松本道宏、春日雅人、井上啓 「ヒスチジンは、中枢神経を介してインスリン作用による肝糖産生抑制を増強する」 第86回 日本内分泌学術総会 2013年4月25日 仙台国際センター(仙台)

6) 木村久美、中村雄介、松本道宏、春日雅人、井上啓 「ヒスチジンは、中枢神経を介してインスリン作用による肝糖産生抑制を増強する」 第24回 分子糖尿病学シンポジウム 2012年12月8日 品川インターシティー(東京)

7) 木村久美、太田嗣人、松本道宏、春日雅人、井上啓 「ヒスチジンは中枢作用を介して肝糖新生を抑制する」 第33回 日本肥満学会 2012年10月12日 ホテルグランヴィア京都(京都)

8) 木村久美、太田嗣人、井上啓 「ヒスチジン摂取による肝糖新生抑制作用の解明」 第55回 日本糖尿病学会年次学術集会 2012年5月19日 パシフィコ横浜(横浜)

9) 木村久美、太田嗣人、井上啓 「ヒスチジンによる肝糖代謝抑制作用の解明」 第85回 日本内分泌学会学術総会 2012年4月21日 名古屋国際会議場(名古屋)

〔その他〕

ホームページ等

<http://inoue.w3.kanazawa-u.ac.jp/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

木村 久美(KUMI KIMURA)
金沢大学・脳・肝インターフェースメディスン研究センター・特任助教
研究者番号:60409472

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし